

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

DSS-AM

(11)Publication number : 09-037776

(43)Date of publication of application : 10.02.1997

(51)Int.Cl. C12N 1/20
C12N 1/20
// C12P 1/06
(C12N 1/20
C12R 1:01)

(21)Application number : 07-160501

(71)Applicant : AGENCY OF IND SCIENCE &
TECHNOL
SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 27.06.1995

(72)Inventor : TOKIWA YUTAKA
TANAKA HIDEO
HARUDANIN PURANAMUDA
YAHATA MASAHIRO

**(54) BACTERIUM HYDROLYZING POLYLACTIC ACID RESIN AND BACTERIUM
HYDROLYSIS OF POLYLACTIC ACID RESIN**

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject bacterium *Amycolatopsis mediterranei* (FERM P-14,921) having a polylactic acid resin hydrolyzing ability, useful for waste treatment of a polylactic acid resin useful as a material for medical treatment, a medicine, etc.

CONSTITUTION: This new bacterium *Amycolatopsis mediterranei* (FERM P-14,921) is an actinomyces belonging to the genus *Amycolatopsi*, having a polylactic acid resin hydrolyzing ability. In waste treatment of a polylactic acid resin having been used as a material for medical treatment and a medicine, an exhaust gas will not emit as incineration as an existing method, the treatment is carried out in a much shorter time than a reclamation treatment. By using the bacterium in composting facilities, a polylactic acid resin can be converted into a useful substance such as an organic acid, etc. The new bacterium is obtained by culturing a bacterium collected from water in soil, a river, a lake or a marsh at Tukuba City in Ibaragi Prefecture in a medium containing a polylactic acid resin, picking up a strain forming a transparent region in the periphery of a colony and carrying out isolation operation.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09037776 A**(43) Date of publication of application: **10 . 02 . 97**

(51) Int. Cl

C12N 1/20
C12N 1/20
// C12P 1/06
(C12N 1/20 , C12R 1:01)

(21) Application number: **07160501**(22) Date of filing: **27 . 06 . 95**(71) Applicant: **AGENCY OF IND SCIENCE &
TECHNOL SHIMADZU CORP**(72) Inventor: **TOKIWA YUTAKA
TANAKA HIDEO
HARUDANIN PURANAMUDA
YAHATA MASAHIRO**

(54) **BACTERIUM HYDROLYZING POLYLACTIC ACID
RESIN AND BACTERIUM HYDROLYSIS OF
POLYLACTIC ACID RESIN**

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject bacterium *Amycolatopsis mediterranei* (FERM P-14,921) having a polylactic acid resin hydrolyzing ability, useful for waste treatment of a polylactic acid resin useful as a material for medical treatment, a medicine, etc.

CONSTITUTION: This new bacterium *Amycolatopsis mediterranei* (FERM P-14,921) is an actinomyces belonging to the genus *Amycolatopsi*, having a polylactic acid resin hydrolyzing ability. In waste treatment of a

polylactic acid resin having been used as a material for medical treatment and a medicine, an exhaust gas will not emit as incineration as an existing method, the treatment is carried out in a much shorter time than a reclamation treatment. By using the bacterium in composting facilities, a polylactic acid resin can be converted into a useful substance such as an organic acid, etc. The new bacterium is obtained by culturing a bacterium collected from water in soil, a river, a lake or a marsh at Tukuba City in Ibaragi Prefecture in a medium containing a polylactic acid resin, picking up a strain forming a transparent region in the periphery of a colony and carrying out isolation operation.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-37776

(43) 公開日 平成9年(1997)2月10日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/20	Z A B	7804-4B	C 1 2 N 1/20	Z A B A
		7804-4B		F
		7804-4B		D
// C 1 2 P 1/06			C 1 2 P 1/06	Z
(C 1 2 N 1/20				

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-160501

(22) 出願日 平成7年(1995)6月27日

(71) 出願人 000001144

工業技術院長

東京都千代田区霞が関1丁目3番1号

(74) 上記1名の復代理人 弁理士 西岡 義明 (外1名)

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(74) 上記1名の代理人 弁理士 西岡 義明

(72) 発明者 常盤 豊

茨城県つくば市東1丁目1番3号 工業技術院生命工学工業技術研究所内

最終頁に続く

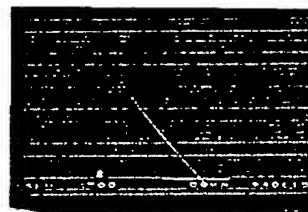
(54) 【発明の名称】 ポリ乳酸樹脂を分解する微生物およびポリ乳酸樹脂の微生物分解方法

(57) 【要約】

【目的】 ポリ乳酸樹脂およびそれらを含むプラスチックを直接生物学的に分解処理する微生物およびその方法を提供することを目的とする。

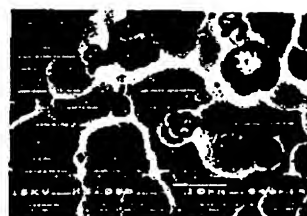
【構成】 例えば *Amycolatopsis mediterranei* に属する放線菌 (FERM P-14921) を用いて、ポリ乳酸樹脂を分解する。

FERM P-14921 放線菌



(a)

FERM P-14921 放線菌



(b)

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ポリ乳酸樹脂の分解能を有するAmycolatopsis mediterranei (FERM P-14921)。

【請求項2】 ポリ乳酸樹脂を放線菌で分解することを特徴とするポリ乳酸樹脂の分解方法。

【請求項3】 請求項2の放線菌がAmycolatopsis 属に属する菌である請求項2記載のポリ乳酸樹脂の分解方法。

【請求項4】 請求項3の放線菌がAmycolatopsis mediterraneiである請求項3記載のポリ乳酸樹脂の分解方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規な生物学的処理法によるポリ乳酸樹脂の分解方法および分解能を有する微生物に関する。

【0002】

【従来の技術】最近、プラスチック廃棄物の処理が問題になっている。処理方法としては焼却や埋め立てが主であるが、焼却は地球温暖化の促進、埋め立ては埋立地の減少等の問題を抱え、生物学的分解処理法が注目されている。また、ポリ乳酸樹脂は次世代のプラスチックとして種々の用途開発が進められており、近い将来、現在使用されているプラスチック同様廃棄物問題がクローズアップされることが十分に予想される。

【0003】ポリ乳酸樹脂は水系の中で加水分解する高分子であり、現在医療や医薬用材料として応用されているが、澱粉等の再生可能な資源から乳酸醗酵を通して合成できることから、環境分解が困難である汎用プラスチックに代わる生分解性プラスチックの素材として注目されている。ポリ乳酸樹脂はその構成モノマーの種類によりポリL-乳酸、ポリD-乳酸、ポリDL-乳酸あるいは他の高分子との共重合体が存在している。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】ポリ乳酸樹脂は酵素に

よって加水分解が促進されていると知られている。しかしながら、これまでポリ乳酸樹脂およびその廃棄物を直接生物学的に分解処理する技術は皆無であった。

【0005】そこで、本発明は、ポリ乳酸樹脂およびそれらを含むプラスチックを直接生物学的に分解処理する微生物およびその方法を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段および作用】本発明者らは、前記課題を解決するべく鋭意研究を重ねた結果、微生物学的手段により優れたポリ乳酸分解活性を有する放線菌を見出し、本研究を完成するに至った。

【0007】即ち、本発明によれば、ポリ乳酸を放線菌で分解することを特徴とするポリ乳酸樹脂の分解方法が提供され、また無機塩類を含む培地にポリ乳酸樹脂とAmycolatopsis 属に属する放線菌を添加し、分解することを特徴とするポリ乳酸樹脂の分解方法が提供され、特に前記Amycolatopsis mediterranei に属する放線菌 (FERM P-14921)であることを特徴とする前記ポリ乳酸樹脂の分解方法が提供される。更に培養条件がpH4.0-10.0、温度10-47℃であることを特徴とする前記ポリ乳酸樹脂の分解方法が提供される。

【0008】なお、本発明でいうポリ乳酸樹脂とは、乳酸を主要成分とする重合体をさし、ポリL-乳酸やポリD-乳酸等のポリ乳酸ホモポリマー、ポリL/D-乳酸共重合体、及びこれらに他のポリマーを共重合させたポリ乳酸共重合体、そして上記ポリマー間、および他の成分ポリマーとのブレンド体を含み、重合体中の乳酸成分の重量比率が10%以上のものをいう。

【0009】本発明はポリ乳酸樹脂の分解を、その分解能を有する微生物に行わせることで、好気条件下でのポリ乳酸樹脂の分解処理を可能にするものである。

【0010】ポリ乳酸分解活性を有する微生物は放線菌である。放線菌としては表1に示す菌が挙げられる。

【0011】

【表1】

放線菌の類、属名

ACTINOBACTERIA	ACTINOPLANETES	MICROPOLYSPORAS
<i>Agromyces</i>	<i>Actinoplanes</i>	<i>Actinopolyspora</i>
<i>Aureobacterium</i>	<i>Ampullariella</i>	<i>Amycolata</i>
<i>Clavibacter</i>	<i>Catellatospora</i>	<i>Amycolatopsis</i>
<i>Curtobacterium</i>	<i>Dactylosporangium</i>	<i>Xibdelosporangium</i>
<i>Microbacterium</i>	<i>Micromonospora</i>	<i>Pseudonocardia</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Piliella</i>	<i>Saccharomonospora</i>
<i>Micrococcus</i>		<i>Saccharopolyspora</i>
<i>Renibacterium</i>	MADURONYCETES	<i>Faenia</i>
<i>Rothia</i>	<i>Actinmadura pusilla</i>	
<i>Stomatococcus</i>	<i>Microbispora</i>	THERMOMONOSPORAS
<i>Cellulomonas</i>	<i>Planobispola</i>	<i>Actinmadura madurae</i>
<i>Oerskovia</i>	<i>Planomonospora</i>	<i>Actinosynnema</i>
<i>Promicromonospora</i>	<i>Streptosporangium</i>	<i>Microtetrastroma viridis</i>
<i>Arcanobacterium</i>		<i>Nocardopsis</i>
<i>Actinomyces</i>	NOCARDIOFORMS	<i>Saccharothrix</i>
<i>Arachnia</i>	<i>Caseobacter</i>	<i>Streptoalloteichus</i>
<i>Pimelobacter</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Thermomonospora</i>
<i>Mycobacterium</i>	<i>Mycobacterium</i>	
<i>Dermatophilus</i>	<i>Rhodococcus</i>	
<i>Brevibacterium</i>	<i>Nocardia</i>	OTHER GENERA
		<i>Glycomyces</i>
STREPTOMYCETES	MULTILOCLULAR SPORANGIA	<i>Kitasatospora</i>
<i>Intrasporangium</i>	<i>Frankia</i>	<i>Spirillospora</i>
<i>Kineospora</i>	<i>Geodermatophilus</i>	<i>Thermoactinomyces</i>
<i>Sporichthya</i>		
<i>Streptomyces</i>		NOCARDIOIDES
<i>Streptoverticillium</i>		<i>Nocardioides</i>

その中で特にAmycolatopsis mediterranei に属する放線菌が好ましく、その分離獲得は以下に示す方法により行った。

【0012】本発明者らは茨城県つくば市の土壌、河川および湖沼水を採用し、以下に詳述する操作を経てポリ乳酸樹脂を分解する好気性微生物を分離獲得した。

【0013】以下の表2に示す基本培地1リットルに1000mgのポリ乳酸樹脂を乳化させ、1.5%の寒天を含む寒天平板培地を調製した。各サンプル1gを5m

lの滅菌水に懸濁させ、 $10^3 - 10^5$ に希釈した後、0.2mlを調製した培地に塗布した。培養は30℃のふ卵器中で行った。培地上に生育したコロニーの中でコロニーの周囲に透明域を形成したものをポリ乳酸樹脂の分解菌とし、白金耳でコロニーを釣り上げるにより単離操作を行った。

【0014】

【表2】

基本培地組成

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg	$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
MnSO_4	0.5 mg	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10 mg
NaCl	10 mg	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	20 mg
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1000 mg	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200 mg
K_2HPO_4	1600 mg	KH_2PO_4	200 mg
	界面活性剤		100 mg
	酵母エキス		100 mg
	蒸留水 1 L 中		pH 7.0

サンプル4 3個の中から培地上に生育したコロニーの周囲に透明域を確認したサンプルは一サンプルのみであった。そのコロニーを白金耳で釣り上げ、同様な培地を用い純粋分離し、ポリ乳酸樹脂分解菌 (FERM P-1 4921) を得ることができた。

【0015】分離菌株をYM寒天培地に接種しコロニーを形成させ、得られた菌体の性状について顕微鏡で観察し、また生化学的性状を調べた。結果は以下の表3に示す。

【表3】

菌株名	Amycolatopsis mediterranei (FERM P-14921)	
コロニーの形態	球状、クリーム、直径1mm	
グラム染色	+	
孢子	-	
移動性	-	
気菌糸	-	
生育温度		
37℃	+	
41℃		
45℃	-	
細胞壁組成		
メソDAP	+	
ミコール酸	-	
カタラーゼ	+	
オキシダーゼ	+	
OFテスト	変化なし	
グルコース	+	
マルトース	+	
セロビオース	+	
ラフィノース	+	
ラムノース	-	
フルクトース	+	
キシロース	+	
白糖	+	
イヌリン	+	
アドニトール	-	
イノシトール	-	
マンニトール	+	
アジ化ナトリウム0.01%	-	
塩化ナトリウム 7%	-	
フェノール 0.1%	-	
リファンピシン	+	
ネオマイシン	+	
アルブチン	-	
キサンチン	-	
アラントイン	-	

表3に示す結果をBergey's Manual of Determinative Bacteriology 9版等に参照したところ、上記の菌株はAmycolatopsis mediterranei属の菌と性状が類似していることから、FERM P-14921はAmycolatopsis mediterraneiであることが示された。

【0016】本発明で使用する菌株はAmycolatopsis mediterranei属とし、ポリ乳酸樹脂を処理するために本菌株(FERM P-14921)を含んだ微生物群を用いることが望ましい。

【0017】本菌株又は本菌株を含む微生物群は必要に

応じて、凍結乾燥した粉末、その粉末と各種ビタミンやミネラルと必要な栄養源を配合した後打錠した錠剤、先に記した基本培地中で生育培養させた培養液、の形でポリ乳酸樹脂の処理に提供される。

【0018】本発明における培養において使用される基本培地は、窒素源として例えば、硫酸アンモニウム、リン酸アンモニウム、炭酸アンモニウム等が使用され、その他無機塩としてリン酸一カリウム、リン酸二カリウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、モリブデン酸ナトリウム、タングステン酸ナトリウムおよび硫酸マンガン等の通常利用される培養源が使用され、そのpHは4.0～10.0であり好ましく5.0～8.0である。また、培養温度は10～47℃であり好ましくは10～40℃である。

【0019】本発明のポリ乳酸の生物学的分解処理は、培養槽に先に示した基本培地、処理されるべきポリ乳酸樹脂、上記菌株および菌群を配合した粉末、錠剤、培養液を添加することで行われることが望ましいが、上記菌株を活性汚泥およびコンポストに組み込んで良い。なお、基本培地に対するポリ乳酸樹脂の投入量は、0.01重量%～10重量%が望ましい。添加する微生物量は極少量であっても構わないが、投入量が処理時間に影響を及ぼさないためにポリ乳酸樹脂に対して0.01重量%以上が好ましい。

【0020】

【実施例】表2の基本培地100mlに対しポリ乳酸樹

脂を加工したフィルムA ($M_w: 2.72 \times 10^5$) およびフィルムB ($M_w: 1.89 \times 10^5$) を炭素源として添加したものを各々用意し、FERM P-14921菌株を接種、30℃で、フィルムA添加培地は14日、フィルムB添加培地は30日間、180rpm回転型振とう機で培養した。添加フィルムの分解に伴う水溶性の全有機炭素量(TOC)を測定した。その結果は表4に示したように、菌株を植菌しないコントロールに比べ、TOCが約3～6倍増加した。なお、分解後のフィルムを走査型電子顕微鏡JSM-T220型(日本電子株式会社製)で倍率5000倍、加速電圧15kVで観察した結果、図1、2に示す如く表面が粗くなったことが確認された。

【0021】以上のことから、分離菌株は高分子量のポリ乳酸樹脂フィルムを分解できることが明らかになった。なお、図1はFERM P-14921によるフィルムAの分解を示すもので、培養14日後のフィルムの表面構造を表している。図1(a)はFERM P-14921無植菌、図1(b)はFERM P-14921植菌である。また、図2はFERM P-14921によるフィルムBの分解を示すもので、培養30日後のフィルムの表面構造を表している。図2(a)はFERM P-14921無植菌、図2(b)はFERM P-14921植菌である。

【0022】

【表4】

FERM P-14921菌によるポリ乳酸樹脂の分解に伴うTOCの変

フィルム	TOC (ppm)	
	培養前	培養後
フィルムを添加しない培養	39.7	10.9
フィルムA		
・延伸フィルム		
FERM P-14921 無植菌	41.5	45.9
FERM P-14921 植菌	40.5	134.4
・延伸しないフィルム		
FERM P-14921 無植菌	42.8	41.4
FERM P-14921 植菌	41.5	219.7
フィルムB		
FERM P-14921 無植菌	43.0	57.6
FERM P-14921 植菌	41.6	307.6

【0023】

【発明の効果】本発明のポリ乳酸樹脂の分解方法は、ポ

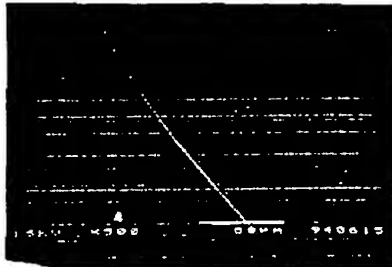
リ乳酸樹脂廃棄物の処理方法であり、これまで既存の焼却のように排ガスも生じず、埋立処理に比べて極めて省

時間な技術であり、廃棄物処理上で極めて価値の高い方法である。また、コンポスト化施設で本発明の処理方法を用いることにより、ポリ乳酸樹脂を有機酸等の有用物質や堆肥に転換することも可能である。

【図面の簡単な説明】

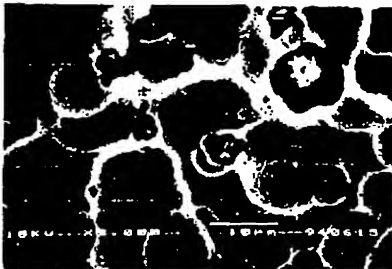
【図 1】

FERM P-14921 無機質



(a)

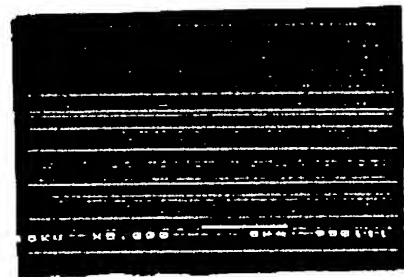
FERM P-14921 植物質



(b)

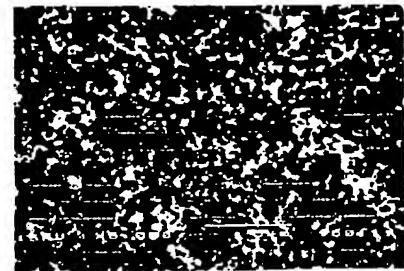
【図 2】

FERM P-14921 無機質



(a)

FERM P-14921 植物質



(b)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

C 12 R 1:01

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

(72) 発明者 田中 秀夫

茨城県つくば市天王台 1 丁目 1 番 1 号 筑波大学応用生物化学系内

(72) 発明者 ハルダニン プラナムダ

茨城県つくば市天王台 1 丁目 1 番 1 号 筑波大学応用生物化学系内

(72) 発明者 矢幡 雅人

京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地
株式会社島津製作所三条工場内